Agilent 7890A/NPD/5975C/DRS GC/MSD システムを用いた法医学毒物の高速スクリーニング

アプリケーション

Bruce Quimby

裁判で使用されるサンプルの毒物学的スクリーニングを行う研究室には、複雑なマトリックス干渉を含むサンプルを多量に分析する必要があるという課題が待ち受けています。この資料で述べるシステムでは、高速 GC を組み合わせて測定時間を削減し、1 回の短い分析でスキャン、SIM、NPD データを同時取り込みし、バックフラッシュにより重いマトリックス成分による検出器汚染を防止し、デコンボリューションレポート作成ソフトウェア (DRS) によりデータの解析を簡素化することで、この要求に対処します。スキャンデータはデコンボリューションされ、278 種類の対象化合物の同定に使用されます。SIM データは、スキャンモードでは検出できない低濃度化合物を選択的に探すために使用されます。NPD の窒素に対する応答は、非対象化合物を明確にし、同定確認するために使用され、必要に応じて定量に使用できます。全血サンプルの抽出物を使用することで、システムは従来のメソッドで検出されるすべての分子を大幅に短い時間で検出します。

ハイライト

- DRS による汚れたサンプルのデータ解析の簡素化
- SIM、スキャン、NPD シグナルの同時取り込みによる時間短縮
- 120 V 仕様でも可能な 7890A GC/MS 高速オーブンアクセサリによる速いプログラミング速度
- バックフラッシングによる高マトリックスサンプルのゴーストピーク低減

実験と結果

227 種類の化合物の裁判毒物学 GC/MSD RTL データベースを Agilent ホームページからダウンロードし、DRS で使用できるように変換しました。メソッドは、Agilent のメソッドトランスレーションソフトウェアを使用して、正確に 2 倍速くなるように設定しました。GC/MS 分析用に前処理された全血抽出物は、NMS Labs (Willow Grove、ペンシルベニア州) から入手しました。全血は、1 段階の液/液抽出で溶媒に抽出し、蒸発乾固し、1/6 の量のトルエンに再溶解して前処理しました。抽出物は表 1 の条件を用いて分析しました。サンプルの 1 つに対してスキャン、SIM、NPD を同時に取り込んだクロマトグラムは図 1 のとおりです。表示されたフェンタニルの m/z 245 のターゲットイオンは、モニタリングされる 13 種類の SIM イオンの 1 つです。スキャンの TIC で見られるような高レベルのマトリックス干渉のために、これは特に困難な例です。1) 対象物のライブラリに対してデコンボリューションしたスペクトルのフルスペクトルサーチ (AMDIS)、2) MSD ChemStation でのターゲットイオンとクォリファイアイオンの比率、3) NPD での応答の組み合わせを用いて、薬物の化合物の存在を確認しました。

AMDIS のデコンボリューションで同定された化合物は、QEdit では範囲外のクォリファイアイオンが手作業で検査されるため、MSD ChemStation では発見されませんでした。AMDIS が許容範囲にあるスペクトルとリテンションタイムでの一致を示し、対応する NPD の応答が存在する場合、定量が強制的に行われました。

SIM データを使用して、スキャンモードで検出するには濃度が低すぎることがよくある複数の化合物 (表 1 を参照) をスクリーニングしました。このサンプルでは、フェンタニルがスキャンデータでは低濃度で存在することが分かり、SIM の応答で確認されました。SIM ターゲットイオンの S/N 比は、スキャンの S/N 比よりも 10 倍大きくなりました。

表 1.　ガスクロマトグラフと質量分析計の条件

GC	Agilent Technologies 7890A		
注入口	EPC スプリット/スプリットレス		
モード	スプリットレス、2 µL 注入		
注入口温度	280 ℃		
圧力	24.15 psig、オキシコドンを 5.505 分にリテンションタイムロック		
パージ流量	50 mL/min		
パージ時間	1 分		
ガスセーバ	オフ		
使用ガス	ヘリウム		
ライナ	Agilent スプリットレス注入口ライナ、シングルテーパ、部品番号 5181-3316		
オーブン	**240 V**		
オーブンランプ	℃/分	次の温度 (℃)	ホールド時間 (分)
初期		120	1.00
ランプ 1	40	320	2.50
合計測定時間	8.5 分		
平衡時間	0.5 分		
バックフラッシュ時間	2.0 分		
バックフラッシュ温度	320 ℃		
カラム	Agilent Technologies DB-17 ms、部品番号 123-4712		
長さ	15.0 m		
内径	0.32 mm		
膜厚	0.25 µm		
モード	定圧		
出口	溶媒排気が可能な双方向スプリッタ		
スプリッタ圧力	データ取込中 3.8 psi、バックフラッシュ中は注入口を 1.0 psi にし、出口を 75 psi に設定		
スプリッタリストリクタ	MSD: 1.44 m x 内径 0.18 mm x 膜厚 0.18 µm、DB-17ms (部品番号 12104722)。NPD: 同じ物の 0.75 m		
溶媒排気	0 ～ 140 分		
NPD	EPC 付きキャピラリ NPD、オプション 251		
ガス流量	水素 3.0 mL/min、空気 60 mL/min、窒素メークアップガス 12 mL/min		
NPD 温度	310 ℃		
MSD	Agilent Technologies 5975C、パフォーマンスターボ		
溶媒ディレイ	なし (スプリッタで溶媒排気)		
EM 電圧	チューニング電圧		
モード	SIM/スキャン		
スキャン	42 ～ 550 m/z、サンプリング:2[1]		
SIM イオン (m/z)	グループ 1 (PCP) 84、186、200、242。4.5 分のグループ 2 (ノルフェンタニルブチル誘導体、6-アセチルモルヒネ、ヘロイン、フェンタニル) 42、82、83、146、158、189、231、245、268、284、310、327、369。6.5 分のグループ 3 (LSD) 221、323、181、207。すべてのデュエルタイム 10 msec		
四重極温度	150 ℃		
イオン源温度	280 ℃		
トランスファライン温度	280 ℃		

表 3 は図 1 のサンプルの DRS レポートを示しています。このレポートには、MSD ChemStation で定量され、デコンボリューションで同定された化合物を記載しています。ここで使用されたレスポンスファクターはスクリーニングされる対象成分の平均的応答を用いているため、定量結果は概算値です。対象物のライブラリには同様に検出される複数の非薬物の化合物が含まれているので注意してください。

対象化合物に対応しない NPD で検出されたピークのスペクトルは、同定のために NIST と Pfleger ライブラリを用いて検索しました。図 1 で疑問符の付いた NPD のピークは対象化合物ではありませんでした。スペクトルの検索結果から、シヘプタミドであることが示されました (サンプル前処理で加えられた内部標準であることが後で分かりました)。

比較のために、図 1 のサンプルを同じ方法ですが、リファレンスとなる 1x メソッドで分析しました。元の 1x メソッドで検出されたすべての薬物は 2x メソッドで検出されていました。

溶媒排気用の双方向スプリッタを使用することで、溶媒ピーク (および他の不要なピーク) が検出器に到達する前に排気できるようになりました。これは、NPD ビードの寿命を延ばすのに役立ちます。このデバイスにより、分析終了時にバックフラッシュすることもできます。図 1 のように、最後の対象化合物の後に溶出する大きなマトリックスピークがあります。バックフラッシュにより、これらの化合物は素早く除去され、時間を節約し、検出器とカラムのメンテナンスを減らすことになります。

表 2 に示しますように、 3 種類の測定、スキャン、SIM、NPD を個別に行う元のメソッドに対して、ここで説明されたメソッドを用いることで大幅に時間が短縮できます。

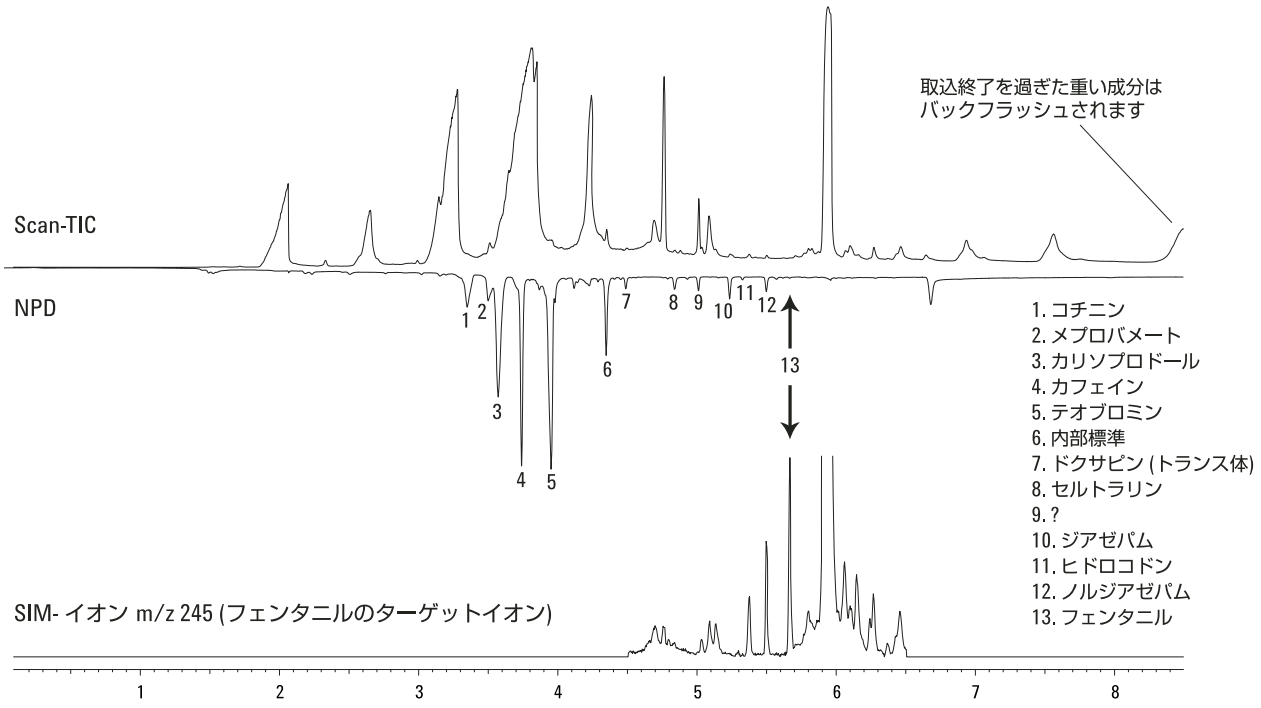

図 1.　　全血サンプルのスクリーニングのクロマトグラム

表 2.　　Agilent 7890A-5975C を用いた場合の時間短縮

	代表的な 6890 1X	7890A 2X	短縮された時間 (分)
マトリックスのベークアウトを含まない測定時間、平衡のための時間を含む	17	8.5	8.5
マトリックスのベークアウトを含む測定時間 6890 またはスプリッタ付き 7890A	24	10.5	13.5
320 ℃から 120 ℃への冷却時間	2.3	1.6	0.7
オートサンプラ時間、7890A ではオーパラップを含む	1	0.1	0.9
スキャン、SIM、NPD シグナルの個別取込 vs. 同時取り込み	81.9	12.2	69.7

時間短縮 > 85%
DRS を用いて短縮した時間は含まず

表 3.　全血サンプルのスクリーニングの DRS レポート

			Agilent	AMDIS		NIST	
R.T.	Cas #	Compound Name	ChemStation Amount (~ng)	Match	R.T. Diff sec.	Reverse Match	Hit Num.
2.1124	nc06	DIETHYLPROPRION		61	-3.9		
2.6530	nc013	TETRADECANOIC ACID	44.17	99	-1.1		
3.3558	nc046	COTININE	1.94	78	0.9		
3.5188	nc060	MEPROBAMATE	1.79	74	-2.2		
3.5792	nc063	CARISOPRODOL	1.88	85	-0.1		
3.745	nc079	CAFFEINE	1.43				
3.958	nc089	THEOBROMINE	5.46	75	1.8		
4.3516	nc0123	10,11-DIHYDRO-DIBENZ[B,F] [1,4]OXAZEPIN-	9.25	98	-0.1		
4.494	nc0133	DOXEPIN(TRANS)	1.45				
4.4940	nc0131	DOXEPIN(CIS)		67	3.0		
4.7654	nc0155	BIS[2-ETHYLHEXYL] PHTHALATE	138.58	94	0.4		
4.8420	nc0158	SERTRALINE[2]	0.54	88	-0.1		
5.087	nc0178	DOXYLAMINE METABOLITE	0.21				
5.238	nc0187	DIAZEPAM	0.45	92	0.3		
5.3285	nc0191	HYDROCODONE	0.1	62	0.2		
5.5009	nc0198	NORDIAZEPAM	0.41	62	0.0		
5.6695	nc0210	FENTANYL	0.1	64	0.8		
5.7097	nc0218	GAMMA-TOCOPHEROL	0.94	81	0.5		
5.8750	nc0226	VITAMEN E	0.81	90	2.7		
5.930	nc0233	CHOLESTEROL	65.83	98	0.2		

結論

説明したシステムを用いることで、毒物学的サンプルのスクリーニングで大幅な時間短縮を実現できます。サンプルあたりの所要サイクル時間は 85% 削減されます。データ解析時間も DRS を使用することで削減されます。

詳細は

Agilent 製品とサービスの詳細については、Agilent のウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

Agilent は、本資料に誤りが発見された場合、また、本資料の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。また、本資料掲載の機器類は薬事法に基づく登録を行っておりません。

著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本資料の複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2007

Printed in Japan
January 2, 2007
5989-6066JAJP

Agilent Technologies